



DE00/01854

4

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 199 43 702.5
Anmeldetag: 07. September 1999
Anmelder/Inhaber: Dr. Florian Kern,
Berlin/DE
Bezeichnung: Peptide zur Vakzinierung gegen das
humane Cytomegalievirus
IPC: C 07 K, A 61 K

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Anmeldung.

München, den 13. Juli 2000
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Hiebinger

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Zusammenfassung:

Peptide, die gegebenenfalls Fragmente des IE-1 oder pp65 Proteins sind, aus der folgenden Gruppe mit der Sequenz:

5

R_N - Gln Thr Met Leu Arg Lys Glu Val Asn Ser Gln Leu Ser Leu Gly - R_C

R_N - Cys Asn Glu Asn Pro Glu Lys Asp Val Leu Ala Glu Leu Val Lys - R_C

R_N - Leu Val Lys Gln Ile Lys Val Arg Val Asp Met Val Arg His Arg - R_C

R_N - Ala Ala Asn Lys Leu Gly Gly Ala Leu Gln Ala Lys Ala Arg Ala - R_C

R_N - Ala Arg Ala Lys Lys Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met - R_C

R_N - Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met - R_C

10

R_N - Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met Cys Tyr Arg Asn Ile Glu - R_C

R_N - Val Thr Ser Asp Ala Cys Met Met Thr Met Tyr Gly Gly Ile Ser - R_C

R_N - Glu Phe Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu Thr Ser - R_C

R_N - Met Ser Ile Tyr Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile - R_C

15

R_N - Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn - R_C

R_N - Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile - R_C

R_N - His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly - R_C

R_N - Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu Leu Cys Pro - R_C

R_N - Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe - R_C

20

R_N - Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly - R_C

R_N - Ala Asn Asp Ile Tyr Arg Ile Phe Ala Glu Leu Glu Gly Val Trp - R_C

R_N - Val Cys Ser Met Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile - R_C

R_N - Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr - R_C

R_N - Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val - R_C

25

R_N - Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile - R_C

R_N - Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe Thr Val Leu - R_C

R_N - Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr - R_C

R_N - Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr Pro Ser Ala Ala - R_C

R_N - Glu Asp Val Pro Ser Glu Lys Leu Phe Met His Val Thr Leu Gly - R_C

30

R_N - Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu - R_C

R_N - Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu - R_C

R_N - Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu - R_C

R_N - Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met - R_C

R_N - Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr - R_C

35

R_N - Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met - R_C

R_N – Asp Glu Glu Glu Ala Ile Val Ala Tyr Tyr Leu Ala Thr Ala Gly - R_C
oder

R_N – Glu Asn Ser Asp Gln Glu Ser Glu Gln Ser Asp Glu Glu Glu - R_C

dabei steht

5 R_N für -H oder eine Amino - Schutzgruppe

R_C für -OH oder eine Carboxyl-Schutzgruppe

Die erfindungsgemäßen Peptide werden zur Herstellung eines Medikaments zur Vakzinierung gegen HVMV – Infektionen oder eines Diagnostikums zur Identifizierung einer Immunantwort gegen HCMV verwendet.

Peptide zur Vakzinierung gegen das humane Cytomegalievirus

Die Erfindung betrifft Peptide oder Peptidderivate, die zur Vakzinierung gegen das humane Cytomegalovirus oder zur Diagnostik bei Patienten, welche eine Immunantwort gegen HCMV aufbauen können, geeignet sind.

Die humanen Cytomegalieviren (HCMV) bilden eine Gruppe artverwandter Viren, die zu den Herpes Viren zählen. (Lutz SCHNEIDER (1990) Pharmazie, Vol. 135 Nr. 27, 2396 - 2400) Nach einer Erstinfektion verbleiben die Viren latent im Körper. Physischer oder psychischer Stress können zur Reaktivierung von latentem HCMV führen. Den Namen erhielten die Viren, weil sie histopatologisch nachweisbare Riesenzellen mit randständigem großem Kern und Viren als Einschlußkörper verursachen. Die Viren sind ubiquitär. Die Durchseuchung der Population schwankt von 30% bis 85, ja 95%. Die zellvermittelte Immunantwort spielt bei der Kontrolle und der Abwehr gegen die HCMV - Infektion eine wesentliche Rolle. Wurden HCMV spezifische CD8⁺ T Zellen von einem Spender auf einen Patienten, der an HCMV leidet, übertragen, so konnte eine Immunantwort gegen die HCMV - Infektion beobachtet werden. (P.D. GREENBERG et al. (1991) Development of a treatment regimen for human cytomegalovirus (CMV) infection in bone marrow transplantation recipients by adoptive transfer of donor - derived CMV - specific T cell clones expanded in vitro. ANN. N. Y. Acad. Sci., Vol.: 636, pp 184 - 195)

Unglücklicher Weise ist zur Zeit wenig über Epitope des HCMV bekannt, welche spezifisch von CD8⁺ T Zellen erkannt werden. Es wird angenommen, daß die Immunantwort wesentlich durch das 55KD Immediate-Early-Protein 1 (IE-1) und das 65KD Lower-Phospho-Matrix-Protein (pp65) hervorgerufen wird. (N.J. ALP et al. (1991) Fine specificity of cellular immune responses in humans to human cytomegalovirus immediate - early 1 protein, J. Virol., Vol: 65, pp 4812 - 4820 und E.H. McLAUGHLIN - TAYLOR et al: (1994) Identification of the major late human cytomegalovirus matrix protein pp65 as a target antigen for CD8⁺ virus - specific cytotoxic T lymphocytes, J. Med. Virol., Vol.: 43, pp 103 - 110)

Die Infektion verläuft bei Erwachsenen mit einem funktionstüchtigen Immunsystem unauffällig und zeigt höchstens unspezifische Symptome, wie Abgeschlagenheit und leicht erhöhte Körpertemperatur. Bei immungeschwächten Erwachsenen stehen bei HCMV - Infektionen pulmonale Erkrankungen, Adernetzhaut-Entzündungen und Magen-Darm-Erkrankungen im Vordergrund. Bei AIDS-Patienten verursachen CMV-Infektionen zahlreiche Todesfälle.

Verschiedene Substanzen werden zur Behandlungen gegen das Cytomegalievirus eingesetzt.

10 Foscarnet ist eine antivirale Substanz mit in Zellkulturen nachgewiesener selektiver Aktivität gegen Humanviren der Herpes-Gruppe, wie zum Beispiel Herpes simples, Varicella zoster, Epstein-Barr und Cytomegalie-Viren, sowie Hepatitis Viren. Die antivirale Wirkung beruht auf einer Hemmung viraler Enzyme, wie DNA-Polymerasen und reversen Transkriptasen. Auf Cytomegalieviren wirkt Foscarnet virostatisch, jedoch
15 können die Viren nicht eliminiert werden. (Lutz SCHNEIDER (1991) Neue Arzneistoffe, Vol 136, Nr. 46,) Eine wesentliche Problematik der Cytomegalievirus-Infektion stellt die Notwendigkeit der bisweilen lebenslangen Dauerbehandlung der Patienten dar. Nachteilig ist weiterhin, daß die Cytomegalieviren in der letzten Zeit resistenter gegen diese Substanz geworden sind. (Stanat et al. (1991) Antimicrob. Agents, Chemother. Vol 35, Nr. 11: 2191 - 2197 und Knox et al. (1991) Lancet, Vol 337: 1292 - 1293)

Die Sequenz von des 55KD Immediate-Early Protein 1 (IE-1) ist beschrieben und definiert in A. AKRIGG, G.W.G. WILKINSON, J.D. ORAM (1985) The structure of the major immediate early gene of human cytomegalovirus strain AD169, Virus. Res., 2:107-121. Die Sequenz des 55KD Immediate-Early Protein 1 ist in der SWISS-PROT Datenbank, European Bioinformatics Institute, unter der Nummer P13202 (=primary accession number) abgelegt. Das 65 KD Lower-Matrix- Phosphoprotein (pp65) wurde beschrieben in B. RUEGER, S. KLAGES, B. WALLA et al. (1987) Primary structure and transcription of the genes coding for the two virion phosphoproteins pp65 and pp71 of human cytomegalovirus, J. Virol. 61:446 – 453. Die Sequenz des 65 KD Lower Matrix Phosphoprotein ist in der SWISS-PROT Datenbank, European Bioinformatics Institute, unter der Nummer P06725 (=primary accession number) abgelegt. Die Sequenzen beider Proteine sind beschrieben in M.S. CHEE, A.T. BANKIER, S. BECKS et al. (1990) Analysis of the protein-coding content of the sequence of human cytomegalovirus strain AD169, Curr. Top. Microbiol. Immunol. 154:125 – 169.

Aufgabe der Erfindung ist das Anbieten von Peptiden oder deren Derivaten, die die Produktion von Interferon- γ oder Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) in CD8⁺ T Zellen, insbesondere von mit HCMV immunisierten Personen mit geeignetem HLA-Typ, induzieren. Diese Peptide und deren Derivate sind als Mittel zur Vakzinierung geeignet.

5 Ebenso sind sie zur Diagnostik geeignet, um feststellen zu können, ob bei einer Person eine gegen HCMV gerichtete zelluläre Immunantwort vorhanden ist, und um diese zu quantifizieren.

Die Aufgabe wird gelöst durch Peptide oder Peptidderivate davon, aus der folgenden

10 Gruppe mit der Sequenz:

R_N – Gln Thr Met Leu Arg Lys Glu Val Asn Ser Gln Leu Ser Leu Gly - R_C

R_N – Cys Asn Glu Asn Pro Glu Lys Asp Val Leu Ala Glu Leu Val Lys - R_C

R_N – Leu Val Lys Gln Ile Lys Val Arg Val Asp Met Val Arg His Arg- R_C

R_N – Ala Ala Asn Lys Leu Gly Gly Ala Leu Gln Ala Lys Ala Arg Ala - R_C

15 R_N - Ala Arg Ala Lys Lys Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met- R_C

R_N - Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met- R_C

R_N - Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met Cys Tyr Arg Asn Ile Glu- R_C

R_N – Val Thr Ser Asp Ala Cys Met Met Thr Met Tyr Gly Gly Ile Ser- R_C

R_N - Glu Phe Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu Thr Ser- R_C

20 R_N – Met Ser Ile Tyr Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile- R_C

R_N – Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn - R_C

R_N – Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile - R_C

R_N – His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly - R_C

R_N – Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu Leu Cys Pro- R_C

25 R_N – Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe- R_C

R_N – Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly - R_C

R_N – Ala Asn Asp Ile Tyr Arg Ile Phe Ala Glu Leu Glu Gly Val Trp- R_C

R_N – Val Cys Ser Met Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile- R_C

R_N – Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr- R_C

30 R_N – Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val- R_C

R_N – Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile - R_C

R_N – Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe Thr Val Leu - R_C

R_N – Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr- R_C

R_N – Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr Pro Ser Ala Ala - R_C

35 R_N – Glu Asp Val Pro Ser Glu Lys Leu Phe Met His Val Thr Leu Gly - R_C

R_N - Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu - R_C

R_N - Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu - R_C

R_N - Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu - R_C

R_N - Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met - R_C

R_N - Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr - R_C

5 R_N - Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met - R_C

R_N - Asp Glu Glu Glu Ala Ile Val Ala Tyr Tyr Leu Ala Thr Ala Gly - R_C

oder

R_N - Glu Asn Ser Asp Gln Glu Glu Ser Glu Gln Ser Asp Glu Glu Glu - R_C

dabei steht

10 R_N für -H oder eine Amino - Schutzgruppe oder mindestens eine weitere Aminosäure außerhalb des Peptids oder Petidderivats,

R_C für -OH oder eine Carboxyl - Schutzgruppe oder mindestens eine weitere Aminosäure außerhalb des Peptids oder Petidderivats,

wobei die Peptid - Derivate eine Deletion, Insertion oder Substituierung von ein, zwei
15 oder drei Aminosäuren der zuvor genannten Sequenzen aufweisen, oder die Sequenz bis auf neun zusammenhängende Aminosäuren gekürzt wird, wobei die Deletion N - terminal und / oder C - terminal ist,

wobei die Peptidderivate im wesentlichen die Funktion eines der zuvor ausdrücklich aufgeführten Peptide

20 Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu

Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu

Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu

Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met

Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr

Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met

Gln Thr Met Leu Arg Lys Glu Val Asn Ser Gln Leu Ser Leu Gly

Cys Asn Glu Asn Pro Glu Lys Asp Val Leu Ala Glu Leu Val Lys

Leu Val Lys Gln Ile Lys Val Arg Val Asp Met Val Arg His Arg

Ala Ala Asn Lys Leu Gly Gly Ala Leu Gln Ala Lys Ala Arg Ala

30 Ala Arg Ala Lys Lys Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met

Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met

Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met Cys Tyr Arg Asn Ile Glu

Val Thr Ser Asp Ala Cys Met Met Thr Met Tyr Gly Gly Ile Ser

Glu Phe Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu Thr Ser

35 Met Ser Ile Tyr Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile

Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn

Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile
 His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly
 Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu Leu Cys Pro
 Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe
 5 Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly
 Ala Asn Asp Ile Tyr Arg Ile Phe Ala Glu Leu Glu Gly Val Trp
 Val Cys Ser Met Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile
 Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr
 Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val
 10 Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile
 Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe Thr Val Leu
 Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr
 Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr Pro Ser Ala Ala
 Glu Asp Val Pro Ser Glu Lys Leu Phe Met His Val Thr Leu Gly
 15 Asp Glu Glu Glu Ala Ile Val Ala Tyr Tyr Leu Ala Thr Ala Gly

oder

Glu Asn Ser Asp Gln Glu Glu Ser Glu Gln Ser Asp Glu Glu Glu
 (jede der vorherigen Sequenzen = Referenzsequenz)

besitzen, in CD8⁺ T Zellen, insbesondere von mit HCMV immunisierten
 20 Personen mit geeignetem HLA-Typ, die Produktion von Interferon- γ oder TNF- α zu induzieren.

Ein geeigneter HLA – Typ (Human Leukocyte Antigen) ist eine Kombination von MHC –
 Klasse I Molekülen (Major Histocompatibility Complex), von denen eines oder mehrere
 die Präsentation der beschriebenen Peptide ermöglichen. Nur wenn ein geeigneter HLA
 – Typ vorliegt, kann ein bestimmtes Peptid auch präsentiert werden, und nur dann kann
 es zur Stimulation kommen. Geeignete Referenz für den MHC an sich und die
 Antigenerkennung von T Zellen: Abdul K. ABBAS Cellular and Molecular Immunology /
 A.K. Abbase A.H. Lichtman, J.S. Prober, Chapter 5 and 6, 1991, W.B. SAUNDERS,
 30 Philadelphia, ISBN 0-7216-3032-4

Viele Patienten, die eventuell vakziniert werden können, sind bereits infiziert. Bei diesen
 Patienten handelt es sich somit um eine Verstärkung der Immunantwort ("Boostern").
 Die Infektion kann latent sein oder aktiv auftreten. Auch Personen mit latentem Virus
 35 sind als „infiziert“ anzusehen.

Bevorzugte Referenzsequenzen sind

Val Cys Ser Met Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile;

Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val;

Glu Phe Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu Thr Ser;

5 Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu.

Die einzelnen Aminosäuren haben in den jeweiligen Positionen unterschiedliche Bevorzugung.

Der Vergleich der verschiedenen Aminosäuren erfolgt durch Austausch einer
10 Aminosäure in einer definierten Position bei gleichzeitiger Beibehaltung der anderen Aminosäuren in den restlichen Positionen. Generell sind auch mehrfache Substituierungen möglich.

Die Funktionen der Peptide oder Peptidderivate werden wesentlich verändert, wenn
15 Substituenten gewählt werden, die bei der Substituierung weniger konservativ als die im folgenden erwähnten Aminosäuren sind. So sind die Substituenten Gly und Ser der Aminosäure Ala ähnlich, weiterhin ist der Substituent Lys der Aminosäure Arg ähnlich. Die Substituenten Gln und His sind der Aminosäure Asn ähnlich, der Substituent Glu ist der Aminosäure Asp ähnlich, der Substituent Ser ist der Aminosäure Cys ähnlich, der
20 Substituent Asn ist der Aminosäure Gln ähnlich, der Substituent Asp ist der Aminosäure Glu ähnlich, der Substituent Thr ist der Aminosäure Ser ähnlich, der Substituent Ser ist der Aminosäure Thr ähnlich, der Substituent Tyr ist der Aminosäure Trp ähnlich, die Substituenten Ala und Pro sind der Aminosäure Gly ähnlich, die Substituenten Asn und Gln sind der Aminosäure His ähnlich, die Substituenten Leu und Val sind der
25 Aminosäure Ile ähnlich, die Substituenten Ile und Val sind der Aminosäure Leu ähnlich, die Substituenten Arg, Gln und Glu sind der Aminosäure Lys ähnlich, die Substituenten Leu, Tyr und Ile sind der Aminosäure Met ähnlich, die Substituenten Met, Leu und Tyr sind der Aminosäure Phe ähnlich, die Substituenten Trp und Phe sind der Aminosäure Tyr ähnlich, und die Substituenten Ile und Leu sind der Aminosäure Val ähnlich.

30 Derartige wesentlichen Veränderungen lassen sich durch Substituierungen mit Aminosäuren erzielen, die sich mehr in ihrer Struktur und in den funktionellen Gruppen unterscheiden. Wesentliche Veränderungen wirken sich dahingehend aus, daß die dreidimensionale Struktur deutlich verändert wird und/oder daß zum Beispiel die Faltblatt - Struktur oder die helikale Struktur beeinflußt wird. Auch Wechselwirkungen
35 der Ladungen und der hydrophoben Ketten sind bei den Veränderungen zu beachten.

Derartige Analysen über Substituierungen lassen sich leicht bewerkstelligen. Dabei wird je eine Aminosäure in einer Position gegen bevorzugt Alanin oder eine weitere Aminosäure ausgetauscht. Nach der Synthese des modifizierten Proteins wird die

5 Funktion des veränderten Peptids gemessen. Die Funktionen und deren Messung sind in den Beispielen dargestellt. Auch mehrfache Substituierungen sind möglich.

Definitionen

Die im Text verwendeten **Abkürzungen** sind durch die Regeln bestimmt, die von der IUPAC-IUB Kommission für biochemische Nomenklatur festgelegt worden sind (Biochemistry 11: 1726 (1972) und Biochem. J. 219: 345 (1984)). Folgende übliche Abkürzungen werden verwendet: Ala = A = Alanin; Arg = R = Arginin; Asn = N = Asparagin; Asp = D = Asparaginsäure; Cys = C = Cystein; Gln = Q = Glutamin; Glu = E = Glutaminsäure; Gly = G = Glycin; His = H = Histidin; Ile = I = Isoleucin; Leu = L = Leucin; Lys = K = Lysin; Met = M = Methionin; Phe = F = Phenylalanin; Pro = P = Prolin; Ser = S = Serin; Thr = T = Threonin; Trp = W = Tryptophan; Tyr = Y = Tyrosin und Val = V = Valin.

Die **Schutzgruppe** des Restes R_N kann bestehen aus:

Alkyl-, Aryl-, Alkylaryl-, Aralkyl-, Alkylcarbonyl- oder Arylcarbonylgruppen mit 1 bis 10 Kohlenstoffatomen, bevorzugt sind Naphthoyl-, Naphthylacetyl-, Naphthylpropionyl-, Benzoylgruppe oder einer Acylgruppe mit 1 bis 7 Kohlenstoffatomen.

Die **Schutzgruppe** des Restes R_C kann bestehen aus:

Eine Alkoxy- oder Aryloxygruppe mit 1 bis 10 Kohlenstoffatomen oder aus einer Aminogruppe.

Weitere **Schutzgruppen** - sowohl für R_N und R_C - sind in Houben-Weyl (1974) Georg Thieme Verlag, 4. Auflage beschrieben. Die Beschreibung der Schutzgruppen in der zitierten Literaturangabe ist Teil der Offenbarung.

Die Sequenz der erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate kann am N-terminalen und/oder C-terminalen Ende an Stelle einer Schutzgruppe mit weiteren **Rahmen-Aminosäure-Sequenzen** verbunden sein. Diese weiteren Rahmen-Aminosäure-Sequenzen sind für die Funktion der erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate nicht wesentlich, sie können jedoch Träger von anderen Funktionen sein, so zum Beispiel enzymatische Funktionen umfassen. Derartige Rahmen - Aminosäure - Sequenzen treten in der Natur auf. Es kann sich dabei zum Beispiel um die zwischen den hypervariablen Bereichen angeordneten Sequenzen des variablen Bereichs eines Antikörpers handeln. Diese Sequenzen werden als "Frame-Work" (Rahmensequenzen) bezeichnet. Als Rahmen - Aminosäure - Sequenzen sind weiterhin nicht abgespaltene Signalsequenzen eines sezernierten eukaryontischen Proteins bekannt, wobei das Protein in einem Bakterium exprimiert wird. Derartige Signalsequenzen haben bisweilen keinen Einfluß auf die Funktion des nachfolgenden

Proteins. Ebenfalls ist es möglich, erfindungsgemäße Peptide oder Peptidderivate hintereinander zu koppeln, wobei Rahmen – Aminosäure – Sequenzen zwischen den Einzelsequenzen angeordnet sind. Ebenfalls sind Fusionsproteine bekannt, bei denen am N-terminalen oder am C-terminalen Ende das Peptid peptidisch gebunden ist. Ein solches Fusionsprotein ist von Bakterien oder eukaryontischen Zellen exprimierbar.

Um im Einzelfall zu entscheiden, ob ein bestimmtes erfindungsgemäßes Peptid oder Peptidderivat mit wenigstens einer Rahmen – Aminosäure – Sequenz und / oder wenigstens einer Schutzgruppe zum Gegenstand der Erfindung zählt, ist ein Vergleich zwischen

- (i) diesem Peptide oder Peptidderivat mit Rahmen-Aminosäure-Sequenz und / oder mit Schutzgruppe und
 - (ii) demselben Peptid oder Peptidderivat ohne Rahmen-Aminosäure-Sequenz und ohne Schutzgruppe
- anzustellen. Dabei sollten beide Moleküle im wesentlichen dieselbe Funktion wie die Peptide aus der Gruppe der Referenzsequenzen besitzen, in CD8⁺ T Zellen, insbesondere von mit HCMV immunisierten Personen mit geeignetem HLA-Typ, die Produktion von Interferon- γ oder TNF- α zu induzieren.

Die aufgeführten Aminosäuren sind natürliche oder künstliche Aminosäuren. Die künstlichen Aminosäuren sind in Houben-Weyl (1974) Georg Thieme Verlag, 4. Auflage beschrieben. Dabei ist der Austausch einer beschriebenen Aminosäure durch eine weitere Aminosäure, die zur Gruppe der natürlichen oder künstlichen Aminosäuren gehört, leicht möglich und aufgrund des Testsystems und Vergleichs mit einem der zuvor ausdrücklich aufgeführten Peptide aus der Gruppe der Referenzsequenzen

leicht möglich, herauszufinden, ob eine Wirkung vorliegt, die gleiche oder ähnliche den gefundenen erfindungsgemäßen Substanzen ist. Unter den Schutzzumfang fallen auch alle D-Aminosäuren und alle Aminosäuren, die künstlich herstellbar sind. (Houben-Weyl). Für den Fachmann ist es ein leichtes, unter Beibehaltung der Funktionen, die im Test überprüfbar sind, die molekulare Struktur unter Beibehaltung der wesentlichen Bausteine abzuwandeln. Auch diese funktionell gleichwirkenden Moleküle fallen unter den Begriff der Peptidderivate.

Vorteile

Die erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate ermöglichen es, gezielt Vakzinen gegen eine Infektion mit humanen Cytomegalievirus herzustellen. Auch können die Peptide und Peptidderivate als Diagnostika verwendet werden, um zu sehen, ob die zu untersuchenden Patienten, insbesondere solche mit geeignetem HLA-Typ, CD8⁺ T Zellen besitzen, die durch die erfindungsgemäßen Substanzen zur Produktion von Interferon- γ oder TNF- α (Tumor - Nekrose - Faktor alpha) induziert werden.

10

Bevorzugte Ausführungsformen

Bevorzugt sind Nonamere, die darin bestehen, daß eine längere Sequenz, wie sie zuvor ausdrücklich genannt worden ist oder deren Derivate bis auf neun zusammenhängende Aminosäuren gekürzt werden. Dabei kann die Deletion N - terminal und / oder C - terminal sein. Wesentlich ist dabei, daß die Funktion von einem Peptid aus der Gruppe der Referenzsequenzen im Wesentlichen erfüllt wird. Daß Nonamere sehr potente Stimulatoren von CD8⁺ T Zellen sind, ist dadurch bedingt, das MHC - Klasse I präsentierte Peptide typischer Weise eine Länge von neun Aminosäuren aufweisen. (K.O. FALK et al. (1991) Allele - specific motifs revealed by sequencing of self - peptides eluted from MHC molecules, Nature, Vol.: 351, pp 290 - 296 und H.G. RAMMENSEE et al. (1999) An Internet Database for MHC Ligands and Peptide Motifs, <http://134.296.221/scripts/hlaserver.dll/home.htm>)

Ebenso ist es möglich, die zuvor genannten Nonamere mit weiteren Aminosäuren peptidisch zu verbinden, so daß Sequenzen von mindestens 10 Aminosäuren entstehen. Diese Sequenzen haben ebenfalls die Funktion, in CD8⁺ T Zellen die Produktion von Interferon- γ oder TNF- α zu induzieren. Somit zählen zum Schutzzumfang der Erfindung auch die um mindestens eine Aminosäure verlängerten Sequenzen von Nonameren, welche die Funktion aufweisen, in CD8⁺ T Zellen, insbesondere von mit HCMV immunisierten Personen mit geeignetem HLA-Typ, die Produktion von Interferon- γ zu induzieren. Für die verlängerten Nonamere ist wesentlich, daß sie ebenfalls die Funktion besitzen, in CD8⁺ T Zellen, insbesondere von mit HCMV immunisierten Personen mit geeignetem HLA-Typ, die Produktion von Interferon- γ oder TNF- α zu induzieren.

35

Herstellung der Peptide

Weiterhin sind die erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate leicht herstellbar. Derart kurze Peptide oder Peptidderivate können mittels einer Technik hergestellt werden, die den Fachleuten im Bereich der Peptidsynthese bekannt ist. Eine Zusammenfassung vieler dieser Techniken können bei J.M. STEWART and J.D. YOUNG, San Francisco, 1969; und J. MEIERRHOFER, Hormonal Proteins and Peptides, Vol. 2 p 46, Academic Press (New York), 1973 für die Festphasen-Methode und E. SCHRODER and K.LUBKE, The Peptides, Vol. 1, Academic Press (New York) 1965 für die Flüssigphasen-Methode nachgelesen werden. Die Schritte der Synthese sind in den EP-A 0 097 031 beschrieben. Die allgemeinen Verfahrensschritte aus den europäischen Publikationen lassen sich analog auf die Synthese der hier beschriebenen erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate übertragen. Weitere Literatur zu der Festphasensynthese sind: Solid Phase Synthesis, E. ATHERTON and R.C. SHEPPARD (1989) IRL Press, ISBN 1-85221-133-4 and Amino Acid and Peptide Synthesis, J. JONES, Oxford Science Publication (1992) ISBN 0-19-855668-3.

Weitere Ausführungsformen bezüglich der Reste

Neben der Abwandlung der Aminosäure-Sequenz der erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate ist auch eine Variation der Reste R_N und R_C möglich. Die Reste brauchen jedoch die Funktion nicht zu beeinflussen. Dennoch lassen sich durch Schutzgruppen Parameter wie Stabilität, pH-Abhängigkeit, biologische Abbaubarkeit und Interaktionen mit dem nativen Teil des Fusionsproteins deutlich beeinflussen.

Bevorzugt sind erfindungsgemäße Peptide oder Peptidderivate, bei denen der Rest R_N für -H oder eine Amino-Schutzgruppe und R_C für -OH oder eine Carboxyl-Schutzgruppe steht.

Bevorzugter sind erfindungsgemäße Peptide oder Peptidderivate, bei denen die Reste stehen:

R_N für -H oder eine Acylgruppe
und
 R_C für -OH oder Amino-Gruppe.

Am meisten bevorzugt sind erfindungsgemäße Peptide oder Peptidderivate, bei denen die Reste stehen:

R_N für -H
und
 R_C für -OH.

5

Herstellungsverfahren der erfindungsgemäßen Peptide

Die Erfindung umfaßt weiterhin die Herstellung der erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate, wobei eine N- α geschützte ω -Amino- α -aminosäure mit einem Dialdehyd in Gegenwart eines Reduktionsmittels umgesetzt und anschließend die Schutzgruppen der Seitenketten und gegebenenfalls die Schutzgruppen des N-Terminus und/oder des C-Terminus abgespalten werden.

15

Ebenfalls umfaßt die Erfindung ein Verfahren, bei dem die erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate hergestellt werden, indem die Aminosäuren in einer homogenen Phase oder nach der Festphasen - Methode kondensiert werden, wobei das Carboxyl - Ende einer zu koppelnden Aminosäure, deren Aminogruppen und gegebenenfalls funktionellen Gruppen der Seitenkette eine Schutzgruppe tragen, mit dem freien Amino - Ende der zu koppelnden Aminosäure oder des zu koppelnden Peptids in Gegenwart eines Kondensationsreagenzes reagiert,

20

und

im Falle einer nicht-endständigen Aminosäure anschließend die α -Amino-Schutzgruppe der gekoppelten Aminosäure abgespalten wird und weitere Aminosäuren an die zu synthetisierende Peptid-Kette nach den zuvor beschriebenen beiden Schritten gekoppelt werden

oder

im Falle einer endständigen Aminosäure gegebenenfalls anschließend die α -Amino-Schutzgruppe der gekoppelten Aminosäure abgespalten wird

und

30

nach Kopplung der letzten Aminosäure im Falle der Festphasen-Methode das Peptid oder Peptidderivat von der Festphase abgespalten wird.

Verwendung als Medikament

Die erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate sind geeignet als Medikament oder Diagnostikum eingesetzt zu werden.

5

Am meisten bevorzugt ist die Verwendung eines Peptids oder Peptidderivates zur Herstellung eines Medikaments zur Vakzinierung gegen das humane Cytomegalievirus. Ebenfalls ist die Verwendung eines erfindungsgemäßen Peptids oder Peptidderivates zur Herstellung eines Diagnostikums zur Identifizierung von einer anti - HCMV Antwort in einem Patienten vorteilhaft. Bei der Diagnose wird dem Patienten Blut entnommen und dabei mit Hilfe von den erfindungsgemäßen Peptiden und Peptidderivaten die Interferon- γ oder TNF- α Produktion in CD8⁺ T Zellen, insbesondere von mit HCMV immunisierten Personen mit geeignetem HLA-Typ, induziert.

10

Als Medikament sind die Peptide oder Peptidderivate bevorzugt, wenn sie eine Zusammensetzung mit pharmakologisch verträglichen Hilfs- und Trägerstoffen bilden. Derartige Hilfs- und Trägerstoffe sind in Remington's Pharmaceutical Science, 15th ed. Mack Publishing Company, East Pennsylvania (1980) beschrieben. Die Zusammensetzungen können nach bekannten Verfahren hergestellt werden.

15

20

Die erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate besitzen pharmakologische Eigenschaften und sind deshalb als pharmazeutischer Wirkstoff oder Diagnostikum, insbesondere als Vakzine oder Diagnostikum verwendbar. Die Erfindung umfaßt ebenfalls ein Arzneimittel, das die erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate enthält.

30

Die Versuchsergebnisse dieses *in vitro* Tests zeigen, daß die erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate als Arzneimittel oder zur medizinischen Behandlung verwendet werden können. Diese Versuchsergebnisse lassen sich von dem *in vitro* Testsystem auf ein *in vivo* System problemlos übertragen.

Die Erfindung liefert weiterhin

35

(i) die Verwendung von erfindungsgemäßen Peptiden oder Peptidderivaten (zur Herstellung eines Medikaments) als Vakzine gegen Infektionen des HCMV;

(ii) eine pharmakologische Zusammensetzung als Vakzine gegen Infektionen des HCMV, welche als Behandlung oder Prophylaxe die erfindungsgemäße Peptide oder Peptidderivate und wenigstens einen pharmazeutischen Hilfs- und / oder Trägerstoff umfaßt.

5

Für die therapeutische Wirkung sind unterschiedliche Dosen geeignet. Sie hängen beispielsweise von den verwendeten Salzen, vom Wirt, von der Art der Verabreichung und von der Art und der Schwere der zu behandelnden Zustände ab.

10 Auch sind Kombinationen der erfindungsgemäßen Peptide oder Peptidderivate möglich.

Die Erfindung umfaßt weiterhin DNA (Desoxyribonucleic acid = Desoxyribonucleinsäure), welche für eine der zuvor genannten Aminosäuresequenzen und deren Derivate kodiert.

15 Diese DNA kann sinnvoller Weise in Vektoren oder Plasmide eingebaut sein. Solche Vektoren sind geeignet, in menschliche Zellen einzudringen und dort mit der Proteinbiosynthese zu beginnen. In dieser Form kann der Proteinbiosynthese – Apparat des Menschen verwendet werden, um die gewünschten Peptide zu synthetisieren und zu sezernieren.

20 Derartige Vektoren werden mit anders kodierenden DNA beschrieben in D. Salmon-Ceron et al. (1999) AIDS Res Hum Retroviruses Vol 15/7, pp 633 – 645 und F. DORNER et al. (1999) Ann Med. Vol 31/1, pp 51 – 60 und G. FERRARI et al. (1997) Blood, Vol 90, pp 2406 – 2416 und K. MOLLING (1998) Z. Arztl. Fortbild. Qualitätssich Vol 92, pp 681 – 683 und M. Giese (1998) Virus Genes Vol 17, pp 219 - 232

35

Beispiele

Methoden

Mit Zitrat versetztes Blut wurde anti-HCMV-IgG-seropositiven Blutspendern erhalten, die einen definierten HLA – Typ besitzen. Es folgte eine Ficoll – Paque Dichte Zentrifugation. Die Zellen wurden mit sterilem PBS gewaschen. Sie wurden in RPMI 1640 resuspendiert, welches 0,1 % BSA und 50 mM Glutamin enthält. Die Zellen werden auf 10^7 Zellen pro ml eingestellt. 200 µl der Zell - Suspension und der Peptid - Lösung (10µg pro ml in RPMI / BSA) werden in Cellstar^R Polystyren – Röhrchen gefüllt und in einem Inkubator gelagert.

Nach einer Stunde wurden 1600 µl RPMI 1640 hinzugegeben, welches 12,5% FCS, 50 mM Glutamin und 12,5 µg pro ml Brefeldin A enthielt. Nach fünf weiteren Stunden wurden die Zellen mit kaltem PBS gewaschen, resuspendiert in PBS, mit 1 mM EDTA, inkubiert für 10 weitere Minuten bei 37 °C und erneut mit kaltem PBS gewaschen.

Nach einer Oberflächenmarkierung mit monoklonalen Antikörpern über 30 Minuten bei 4°C im Dunkeln wurden die Zellen in PBS, das 4 % Paraformaldehyd enthielt, über 4 Minuten bei 37 °C fixiert und anschließend mit PBS gewaschen. Die Zellen wurden dann mittels der Permeabilisierungslösung von Becton Dickinson (Heidelberg) permeabilisiert und anschließend nochmals mit PBS gewaschen.

Im Anschluß an die folgende intrazelluläre Markierung mit monoklonalen Antikörpern gegen Interferon-γ und/oder TNF-α wurden die Zellen erneut in PBS gewaschen und mit einem FACScalibur^R Durchfluß – Zytometer (Becton Dickinson) unter Verwendung einer CellQuestTM Software analysiert. Nicht stimulierte Proben wurden als Kontrolle eingesetzt.

Ergebnisse:

Die erfindungsgemäßen Substanzen zeigten eine Stimulierung der CD8⁺ T Zellen. Diese Substanzen sind daher als Vakzine geeignet. Weiterhin sind sie geeignet, als Diagnostikum eingesetzt zu werden, wobei die Zellen identifiziert werden, die auf HCMV reagieren können. Die Unfähigkeit oder Fähigkeit eines Patienten, auf HCMV reagieren zu können, oder eine bereits stattgefundene Immunisierung mit HCMV werden durch diese Form der Diagnostik festgestellt. Die Stimulierung der CD8⁺ T Zellen wurde durch das Vorhandensein von intrazellulär zurückgehaltenem Interferon-γ oder Tumor – Nekrose – Faktor - α (TNFα) nachgewiesen.

Herstellung der Peptide

Die Synthese von Peptiden oder Peptidderivaten ist an einem Multiplen
5 Peptidsynthesizer (MPS) AMS 422 von ABIMED (Langenfeld) ausführbar (H.
GAUSEPOHL et al. (1992) Peptide Research 5/6: 315 - 320).

Für die Peptidsynthese können als feste Träger gehärtete Zellulose (Whatman 540;
Katalog Nummer 1540917) der Firma Whatman (Maidstone, Großbritannien) und
10 Polystyrolharz Tenta Gel SRAM (Kapazität 0,25 meq/g) der Firma Rapp Polymere
(Tübingen, Deutschland) benutzt werden.

Ausführlich ist die Festphasen Peptidsynthese beschrieben in Rudolf Volkmer- Engert,
Berit Hoffmann and Jens Schneider-Mergener, (1997) Stable Attachment of the HMB-
Linker to Continuous Cellulose Membranes for Parallel Solid Phase Spot Syntheses,
Tetrahedron Letter, Vol. 38,6; pp 1029 - 1032.

Sequenzprotokoll:

- (1) ALLGEMEINE ANGABEN
- (i) ANMELDER:
- (A) NAME: Florian KERN
- 5 (B) STRASSE: Wolliner Straße 9
- (C) ORT: 10435 BERLIN
- (E) LAND: DEUTSCHLAND
- (F) POSTLEITZAHL: 10435
- (ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG:
- 10 (iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 33 Sequenzprotokolle
- (iv) COMPUTERLESBARE FASSUNG
- (A) DATENTRÄGER: DISKETTE
- (B) COMPUTER: 486/INTEL
- 15 (C) BETRIEBSSYSTEM: WINDOWS
- (D) SOFTWARE: WINWORD;
- (v) DATEN DER JETZIGEN ANMELDUNG:
- (2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 1:
- (i) SEQUENZKENNZEICHEN
- 20 SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren
- ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz
- MERKMAL: Vakzine gegen HCMV
- SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 1:
- 25 Gln Thr Met Leu Arg Lys Glu Val Asn Ser Gln Leu Ser Leu Gly
- (2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 2:
- (i) SEQUENZKENNZEICHEN
- 30 SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren
- ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz
- MERKMAL: Vakzine gegen HCMV
- SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 2:
- Ala Arg Ala Lys Lys Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met
- (2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 3:
- (i) SEQUENZKENNZEICHEN
- 35 SEQUENZLÄNGE: 10 Aminosäuren
- ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz
- MERKMAL: Vakzine gegen HCMV
- 40 SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 3:
- Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met
- (2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 4:
- (i) SEQUENZKENNZEICHEN
- 45 SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren
- ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz
- MERKMAL: Vakzine gegen HCMV
- SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 4:
- 50 Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met Cys Tyr Arg Asn Ile Glu
- (2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 5:
- (i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren
ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz
MERKMAL: Vakzine gegen HCMV
SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 5:

5 Glu Phe Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu Thr Ser

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 6:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 9 Aminosäuren

10 ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 6:

Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu

15 (2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 7:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 9 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

20 SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 7:

Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 8:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

25 SEQUENZLÄNGE: 9 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 8:

Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu

30

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 9:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 9 Aminosäuren

35 ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 9:

Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 10:

40 (i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 9 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 10:

45 Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 11:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

5 MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 11:

Cys Asn Glu Asn Pro Glu Lys Asp Val Leu Ala Glu Leu Val Lys

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 12:

10 (i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 12:

15 Leu Val Lys Gln Ile Lys Val Arg Val Asp Met Val Arg His Arg

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 13:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

20 ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 13:

Ala Ala Asn Lys Leu Gly Gly Ala Leu Gln Ala Lys Ala Arg Ala

25 (2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 14:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 10 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

30 MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 14:

Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met

35 (2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 15:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

40 SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 15:

Val Thr Ser Asp Ala Cys Met Met Thr Met Tyr Gly Ile Ser

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 16:

45 (i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 16:

50 Met Ser Ile Tyr Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 17:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

5 MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 17:

Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 18:

10 (i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 9 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 18:

15 Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 19:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

20 SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 19:

His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly

25 (2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 20:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

30 SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 20:

Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu Leu Cys Pro

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 21:

35 (i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 9 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 21:

40 Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 22:

45 (i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 9 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 22:

Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 23:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

5 MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 23:

Ala Asn Asp Ile Tyr Arg Ile Phe Ala Glu Leu Glu Gly Val Trp

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 24:

10 (i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 24:

15 Val Cys Ser Met Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 25:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

20 SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 25:

Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr

25 (2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 26:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 9 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

30 SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 26:

Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 27:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

35 SEQUENZLÄNGE: 9 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 27:

Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile

40

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 28:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

45 MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 28:

Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe Thr Val Leu

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 29:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

5 MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 29:

Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 30:

10 (i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 30:

15 Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr Pro Ser Ala Ala

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 31:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

20 SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 31:

Glu Asp Val Pro Ser Glu Lys Leu Phe Met His Val Thr Leu Gly

25 (2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 32:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

30 SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 32:

Asp Glu Glu Glu Ala Ile Val Ala Tyr Tyr Leu Ala Thr Ala Gly

(2) ANGABEN ZU SEQ. ID. NO: 33:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN

35 SEQUENZLÄNGE: 15 Aminosäuren

ART DER SEQUENZ: Aminosäure-Sequenz

MERKMAL: Vakzine gegen HCMV

SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ. ID. NO: 33:

40 Glu Asn Ser Asp Gln Glu Glu Ser Glu Gln Ser Asp Glu Glu Glu

Patentansprüche:

1. Peptide oder Peptidderivate davon, aus der folgenden Gruppe mit der Sequenz:

- 5 R_N - Gln Thr Met Leu Arg Lys Glu Val Asn Ser Gln Leu Ser Leu Gly - R_C
 R_N - Cys Asn Glu Asn Pro Glu Lys Asp Val Leu Ala Glu Leu Val Lys - R_C
 R_N - Leu Val Lys Gln Ile Lys Val Arg Val Asp Met Val Arg His Arg- R_C
 R_N - Ala Ala Asn Lys Leu Gly Gly Ala Leu Gln Ala Lys Ala Arg Ala - R_C
 R_N - Ala Arg Ala Lys Lys Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met- R_C
10 R_N - Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met- R_C
 R_N - Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met Cys Tyr Arg Asn Ile Glu- R_C
 R_N - Val Thr Ser Asp Ala Cys Met Met Thr Met Tyr Gly Gly Ile Ser- R_C
 R_N - Glu Phe Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu Thr Ser- R_C
 R_N - Met Ser Ile Tyr Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile- R_C
15 R_N - Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn - R_C
 R_N - Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile - R_C
 R_N - His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly - R_C
 R_N - Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu Leu Cys Pro- R_C
 R_N - Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe- R_C
20 R_N - Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly - R_C
 R_N - Ala Asn Asp Ile Tyr Arg Ile Phe Ala Glu Leu Glu Gly Val Trp- R_C
 R_N - Val Cys Ser Met Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile- R_C
 R_N - Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr- R_C
 R_N - Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val- R_C
25 R_N - Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile - R_C
 R_N - Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe Thr Val Leu - R_C
 R_N - Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr- R_C
 R_N - Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr Pro Ser Ala Ala- R_C
 R_N - Glu Asp Val Pro Ser Glu Lys Leu Phe Met His Val Thr Leu Gly - R_C
30 R_N - Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu - R_C
 R_N - Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu - R_C
 R_N - Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu - R_C
 R_N - Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met- R_C
 R_N - Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr - R_C
35 R_N - Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met - R_C

R_N – Asp Glu Glu Glu Ala Ile Val Ala Tyr Tyr Leu Ala Thr Ala Gly - R_C
oder

R_N – Glu Asn Ser Asp Gln Glu Glu Ser Glu Gln Ser Asp Glu Glu Glu - R_C
dabei steht

5 R_N für -H oder eine Amino - Schutzgruppe oder mindestens eine weitere
Aminosäure außerhalb des Peptids oder Peptidderivats,

R_C für -OH oder eine Carboxyl - Schutzgruppe oder mindestens eine weitere
Aminosäure außerhalb des Peptids oder Peptidderivats,

wobei die Peptid - Derivate eine Deletion, Insertion oder Substituierung von ein, zwei
10 oder drei Aminosäuren der zuvor genannten Sequenzen aufweisen, oder
die Sequenz bis auf neun zusammenhängende Aminosäuren gekürzt wird, wobei die
Deletion N – terminal und / oder C – terminal ist,

wobei die Peptidderivate im wesentlichen die Funktion eines der zuvor
ausdrücklich aufgeführten Peptide

15 Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu
Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu
Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu
Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met
Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr
20 Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met
Gln Thr Met Leu Arg Lys Glu Val Asn Ser Gln Leu Ser Leu Gly
Cys Asn Glu Asn Pro Glu Lys Asp Val Leu Ala Glu Leu Val Lys
Leu Val Lys Gln Ile Lys Val Arg Val Asp Met Val Arg His Arg
Ala Ala Asn Lys Leu Gly Gly Ala Leu Gln Ala Lys Ala Arg Ala
25 Ala Arg Ala Lys Lys Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met
Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met
Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met Cys Tyr Arg Asn Ile Glu
Val Thr Ser Asp Ala Cys Met Met Thr Met Tyr Gly Gly Ile Ser
Glu Phe Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu Thr Ser
30 Met Ser Ile Tyr Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile
Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn
Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile
His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly
Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu Leu Cys Pro
35 Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe
Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly

Ala Asn Asp Ile Tyr Arg Ile Phe Ala Glu Leu Glu Gly Val Trp
 Val Cys Ser Met Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile
 Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr
 Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val

5

Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile

Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe Thr Val Leu
 Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr
 Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr Pro Ser Ala Ala
 Glu Asp Val Pro Ser Glu Lys Leu Phe Met His Val Thr Leu Gly
 Asp Glu Glu Glu Ala Ile Val Ala Tyr Tyr Leu Ala Thr Ala Gly

10

oder

Glu Asn Ser Asp Gln Glu Glu Ser Glu Gln Ser Asp Glu Glu Glu
 (jede der vorherigen Sequenzen = Referenzsequenz)

15

besitzen, in CD8⁺ T Zellen, insbesondere von mit HCMV immunisierten
 Personen mit geeignetem HLA-Typ, die Produktion von Interferon- γ oder TNF- α zu induzieren.

20

2. Fragmente von Peptiden oder Peptidderivaten nach Anspruch 1, wobei die
 Fragmente Nonamere sind, die darin bestehen, daß eine längere Sequenz nach
 Anspruch 1 bis auf neun zusammenhängende Aminosäuren gekürzt wird, wobei die
 Deletion N – terminal und / oder C – terminal ist und wobei die Funktion von wenigstens
 einem Peptid aus der Gruppe der Referenzsequenzen
 im Wesentlichen von dem Nonamer dabei erfüllt wird.

25

3. Peptide oder Peptidderivate nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei
 R_N für -H oder eine Amino-Schutzgruppe
 und
 R_C für -OH oder eine Carboxyl-Schutzgruppe steht.

30

4. Peptide oder Peptidderivate nach Anspruch 3, wobei die Reste stehen:
 R_N für -H oder eine Acylgruppe
 und
 R_C für -OH oder Amino-Gruppe.

35

5. Peptide oder Peptidderivate nach Anspruch 4, wobei die Reste stehen:
 R_N für -H

und

R_C für -OH.

6. Peptide oder Peptidderivate nach einem der vorherigen Ansprüche als
5 Medikament oder Diagnostikum.
7. Verwendung eines Peptides oder Peptidderivates nach einem der vorherigen
Ansprüche zur Herstellung eines Medikaments zur Vakzinierung gegen HCMV
Infektionen.
10
8. Verwendung eines Peptides oder Peptidderivates nach einem der Ansprüche 1
bis 6 zur Herstellung eines Diagnostikums zur Identifizierung von einer HCMV -
Infektion.
- 15 9. DNA, welche für eine der Aminosäuresequenzen und deren Derivate nach
einem der Ansprüche 1 bis 5 kodiert.
10. Vektoren oder Plasmide, in welche die DNA nach Anspruch 9 eingebaut ist.
- 20 11. DNA, Plasmid oder Vektor nach Anspruch 9 oder 10 als Medikament.

